平成 21 年 8 月

お客様各位

株式会社 森永生科学研究所

モリナガ FASPEK 特定原材料ウエスタンブロットキット

変更点のご案内

1. キットの構成試薬（赤字が変更点です）

	品名	容量	数量
A	抽出用 A 液（20 倍濃縮液）	55mL	1 本
B	抽出用 B 液（20 倍濃縮液） 医薬用外毒物	55mL	1 本
C	検体希釈液 （20 倍濃縮液）	50mL	1 本
D	標準品（10μg/mL） 医薬用外毒物	500μL	1 本
E	ウサギ抗体溶液	1.2 mL	1 本

FASPEK WB キットには医薬用外毒物の 2-メルカプトエタノールを使用しておりますので、ご使用の際は法令に則ってくださいますよう、お願いします。

2. 必要な器具・装置・試薬の変更点（赤字が変更点です）

本キットを用いてウエスタンブロット法を実施するには、下記に示した器具、装置、試薬または同等品が別途必要です。（下記は当社での使用例です）

サンプル調製

・ホモジナイザー

ラボミルサー LM-1	（大阪ケミカル）
エースホモジナイザー AM-3-50	（日本精機製作所）
ミルサー I FN-700G	（岩谷産業）

・ローディング緩衝液

Laemmli Sample Buffer	（#161-0737, BIO-RAD）
2-メルカプトエタノール	

・ヒートブロックまたは湯浴

・振とう機

電気泳動

・電源装置

Electrophoresis Power Supply – EPS 1001	（#18-1130-03, GE ヘルスケア）

・泳動装置

セイフティーセルミニ STC-808	（#03-101, TEFCO）

・分子量スタンダード

SeeBlue Plus2 Pre-Stained Standard	（#LC5925, invitrogen）

・ポリアクリルアミドゲル

Q-PAGE mini 12.5% 1.0 mm × 12 well	（#09-15K, TEFCO）

・泳動用緩衝液

Tris-BES 泳動バッファー（10x）	（#06-384, TEFCO）

・酸化防止剤

酸化防止剤（400x）	（#06-387, TEFCO）

ブロッティング

・転写装置

トランスブロット SD セル	（#170-3940(ブロットアブソーベントフィルターペーパー付属), BIO-RAD）

・転写膜

Hybond-P（PVDF メンブレン）	（#RPN303F, GE ヘルスケア）

・濾紙

ブロットアブソーベントフィルターペーパー（極厚）（#170-3965, BIO-RAD）

・転写用緩衝液

10x Tris/Glycine	（#161-0734, BIO-RAD）
メタノール	

免疫染色

・洗浄液

10x TBS	（#170-6435, BIO-RAD）
Tween-20	

・ブロッキング試薬

ウシ血清アルブミン

・二次抗体キット

VECTASTAIN ABC-AP Rabbit IgG kit (#AK5001, VECTOR)

・検出試薬

Alkaline Phosphatase Substrate Kit Ⅳ <BCIP/NBT>(#SK-5400, VECTOR)

・検出試薬用緩衝液

100 mM Tris/塩酸(pH 9.5)

---

3. 操作方法の変更点（赤字が変更点です）

詳細は取扱説明書をご覧ください

【測定のフローチャート】

Ⅰ.サンプル及び各種試薬類の調製

① 食品検体を均質化する

↓

② 均質化された検体 1g を 50mL 遠心管等に取り、検体抽出液を 19mL 加えて混合する

↓

③ 振とう機で 12 時間以上振とう抽出する

↓

④ 遠心分離し、上清を分取する

↓

⑤ ④の抽出液とローディング緩衝液を 1:2 で混和し、沸騰水浴中で加温する

↓

Ⅱ.ポリアクリルアミドゲル電気泳動

サンプル中のタンパク質を、その分子量に従って分離する(60 mA/ゲル、室温)

↓

Ⅲ.ブロッティング

ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離したタンパク質を電気的に転写膜へ転写する

(15V、1 時間、室温)

↓

Ⅳ.免疫染色

＜モリナガ特定原材料ウエスタンブロットキット(旧キット)と同操作＞